

昆虫脱皮ホルモンの吸収, 分布, 代謝および排泄に関する研究

著者	大泉 康
号	35
発行年	1971
URL	http://hdl.handle.net/10097/15672

氏 名（本籍）	おお 大	いずみ 泉	やすし 康
学 位 の 種 類	薬	学	博 士
学 位 記 番 号	薬 博 第	3 5	号
学位授与年月日	昭 和 4 7 年 3 月 2 4 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当		
研究科専門課程	東北大学大学院薬学研究科 （博士課程）薬学専攻		
学 位 論 文 題 目	昆虫脱皮ホルモンの吸収，分布，代謝 および排泄に関する研究		

（主 査）

論文審査委員	教授	竹	本	常	松	教授	内	山	充
						教授	小	澤	光

論文 内 容 要 旨

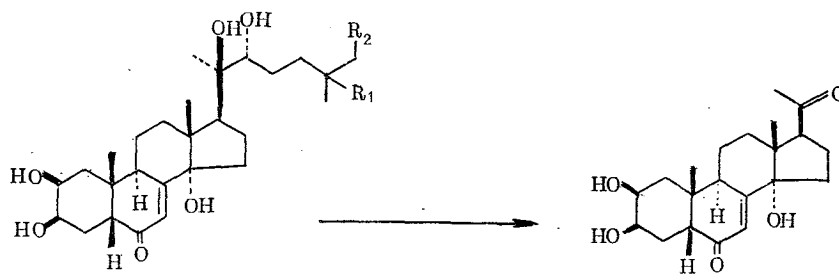
昆虫における脱皮ホルモンの生合成との関連からカイコにおけるステロールの代謝に着目した。カイコはその体内でワサ葉に含まれている β -sitosterolをcholesterolへ変換することが認められているが、その変換機構は明らかでない。高等動物体内でdesmosterolからcholesterolへの変換を強力に阻害することが知られている $3\beta-(\beta, \beta\text{-dimethylaminoethoxy})\text{-androst-5-en-17-one}$ (DAEA), $3\beta-(\beta, \beta\text{-dimethylaminoethoxy})\text{-androst-5-en-17-methoxime}$ (DAEAM) およびその阻害作用が認められなかつた $3\beta-(\beta, \beta\text{-dimethylaminoethoxy})\text{-cholest-5-ene}$ (DAEC) をカイコに経口投与した後ステロール画分を抽出しガスクロマトグラフィーでその分析を行なつた。またその際これらの薬物のカイコの生長と変態に対する影響を検討した。その結果 DAEA および DAEAM を少量与えたカイコでは対照のカイコで全く認められない desmosterol の蓄積が著明に認められた。それらの投与量を上げると次第に desmosterol の蓄積は少なくなる一方、 β -sitosterol の蓄積が認められた。これは低投与量の場合 desmosterol から cholesterol への変換が特異的に阻害され、高投与量においては β -sitosterol から次の代謝物への変換も阻害されたためであると解される。DAEC は高投与量においても β -sitosterol の蓄積は認められず desmosterol から cholesterol への変換を特異的に阻害し desmosterol を蓄積せしめた。以上の事実からカイコは β -sitosterol を desmosterol を経由して cholesterol へ変換していることが明らかになつた。 β -sitosterol を多量カイコに投与すると著明な desmosterol の蓄積が認められた。これはこの脱アルキル反応系の律速段階が desmosterol が cholesterol へ変換される反応であることを示唆している。DAEA および DAEAM は低投与量の場合カイコの生長にはほとんど影響を与えなかつたが、上簇および変態を抑制した。それらの高投与量においてはカイコの生長の抑制および上簇、変態の著しい阻害が認められた。DAEA および DAEAM 投与でホルモンの不均衡により生ずるといわれる吐糸不能な不吐糸蚕、体の大部分が幼虫で一部蛹の形質を有するプロセテリー蚕および体の大部分が蛹で一部幼虫の形質を有するメタセテリー蚕が出現することが明らかになつた。DAEA は蛹化試験において ecdysterone の脱皮ホルモン活性に影響を与えないこと、DAEA および DAEAM の投与により上簇および変態が抑制されるのが ecdysterone 投与によりある程度回復することなどから、DAEA および DAEAM は脱皮ホルモンの生合成を抑制している可能性が示唆された。一方、DAEC は比較的 low 投与量でもカイコの生育を著しく阻害し幼虫のまま死亡せしめた。DAEC は高等動物に対する毒性は著しく弱くしかも昆虫に強い毒性を示す点注目される。

次に、昆虫における脱皮ホルモンの本体と考えられ、また植物界に最も広く分布している *ecdysterone* のトリチウム標識化合物を合成しカイコの5令幼虫に投与し、その吸収、分布、代謝および排泄をカイコの各部位および糞から放射性物質を抽出しその放射能を測定する方法と全身オートラジオグラフィーを併用し詳細に検討した。また *ecdysterone* とその代謝産物はアンバーライト XAD-2 を用いた液体クロマトグラフィーにより分析した。 ^3H -*ecdysterone* をカイコに経口投与した場合注射による投与に比較し、体内の放射性物質の濃度が著しく低いこと、代謝される *ecdysterone* の量が少ないことなどから *ecdysterone* の消化管からの吸収はあまりよくないと考えられる。 ^3H - β -sitosterol をカイコに投与した場合投与経路をとわず速やかに吸収され体内に長時間保持されるのに対し、投与された *ecdysterone* は体内から急速に消失し糞へ排泄され、長時間体内に保持されないことが明らかになった。カイコの5令幼虫に ^3H -*ecdysterone* を注射により投与すると *ecdysterone* より極性の高い物質 A および B へ速やかに代謝された。以上の事実を総合するとカイコが経口的に *ecdysterone* を摂取した場合その消化管からの吸収があまりよくないこと、いつたん吸収された *ecdysterone* は代謝と排泄により急速に体内から減少することがカイコにおける外因性の脱皮ホルモンの防禦に大きな役割を果していると考えられる。カイコの生長発達段階における *ecdysterone* の代謝活性の変動を検討した結果、著しい変動が認められ、とくに脱皮ホルモンの濃度が最も高いことが知られている前蛹の時期の代謝活性は幼虫期において最も低いことが明らかとなった。これはカイコの幼虫期における代謝活性の変動による脱皮ホルモンの体内濃度の調節を示唆している。また幼虫器官の解離と成虫器官の形成が行なわれ生理的に激変期に当る蛹3日においてその代謝活性はカイコの生長発達段階において最も低く、投与した *ecdysterone* はほとんど代謝されないこと、脱皮現象がもはや起らない成虫においてその代謝活性が最も高く維持されていることなど注目すべき事実が明らかにされた。そのことはカイコにおける生理的意義について興味ある問題を提起した。

脱皮ホルモンの代謝経路については、Galbraith らがある昆虫体内に *ecdysterone* (II) の側鎖が開裂し 4-hydroxy-4-methyl-pentanoic acid の生成することを示したが、*poststerone* (IV) へ代謝される直接的な証明を欠いている。そこで昆虫において Chart に示した代謝経路の存在することを証明するため $[1\alpha, 2\alpha-^3\text{H}_2]$ -cholesterol から生合成的に合成した ^3H -ponasterone A (I) をカイコ(5令幼虫)に注射によつて投与し、48時間後に放射性物質を抽出し、アルミナ、シリカゲルおよびアンバーライト XAD-2 を用いた液体クロマトグラフィーに付した。II, IV および VI とそれぞれ同じ保持時間をもつ流出部分にそれぞれのキャリアーを加え再結晶を繰り返した。その結果 II および IV はそれぞれ比放射能が一定に達したが、VI の放射能は消失した。*inokosterone* (III) の保持時間は II のそれと極めて近いので III に相当する流出画分に II の再結晶母液を加えてアセチル化し得られた tetraacetate にキャリアーを

加え再結晶を繰返し比放射能が一定に達したⅢのアセチル体を得た。以上の結果からⅠはカイコ体内においてⅡ、ⅢおよびⅣに代謝されることが明らかとなつた。その変換率からⅠの主要代謝経路はⅠ→Ⅱ→物質Aと結論された。ⅠのⅢおよびⅣへの変換率は低く主要代謝経路とはいえないがⅢおよびⅣの脱皮ホルモン活性はⅠと比較してかなり弱いことからⅠの一つの不活性化機構といえよう。

最近脱皮ホルモンおよびその類似物質の高等動物における生理作用を知る目的で薬理学的、生化学的研究が行なわれるようになり、いくつかの注目すべき生理活性が見い出されている。その基礎的な研究としてマウスにおけるecdysteroneの吸収、分布、代謝および排泄を主要臓器および排泄物から放射性物質を抽出する方法とオートラジオグラフィーを併用し詳細に検討した。まずecdysteroneの投与経路によりその吸収および分布が著しく異なることが注目される。 ^3H -ecdysterone投与後各臓器での放射性物質の濃度が最高値に達するのとその後減少するのが腹腔内投与の場合は著しく急速であるのに対し経口投与の場合は緩慢であつた。また腹腔内投与の場合投与後10分においてすでに放射性物質は全身に分布しているのに対し、経口投与の場合大部分の放射性物質は各時点とも消化管内に存在していて全身への分布はほとんど認められなかつた。事実 ^3H -ecdysteroneを比較的多く取込んだ肝臓、腎臓および血液の最高濃度を比較すると、腹腔内投与の場合に比して経口投与の場合の方が著しく低かつた。以上の事実から腹腔からの吸収は極めて容易なのに反し、消化管からの吸収は速やかでないと推定される。腹腔内投与および経口投与のいずれにおいても肝臓に選択的に高濃度に分布し、肝臓の能動的な取込みが示唆された。その肝臓において放射性物質は胆のうの部位に最も高濃度に存在していた。次に、肝臓の細胞内分布を検討したところ上清画分に放射性物質の80%以上が存在していた。従つて蛋白質合成に最も密接な関係を有するミクロソーム画分への親和性は著しくないと考えられる。放射性物質の排泄に着目すると糞および尿への排泄は臓器および消化管内のその減衰傾向と対応し、腹腔内投与の場合急速で、経口投与の場合は緩慢であつた。いずれの投与経路によっても尿よりも糞への排泄が著しく多く、吸収された ^3H -ecdysteroneは肝臓から肝汁を介して一部胃から胃分泌物を介して消化管へ排泄されるのが主要な排泄経路であると推定される。肝臓に取込まれた放射性物質をシリカゲル薄層クロマトグラフィーで検討したところ、ecdysteroneに相当する物質は時間の経過とともに減少した。しかし代つて少数の代謝物が特異的に生ずることはなかつた。

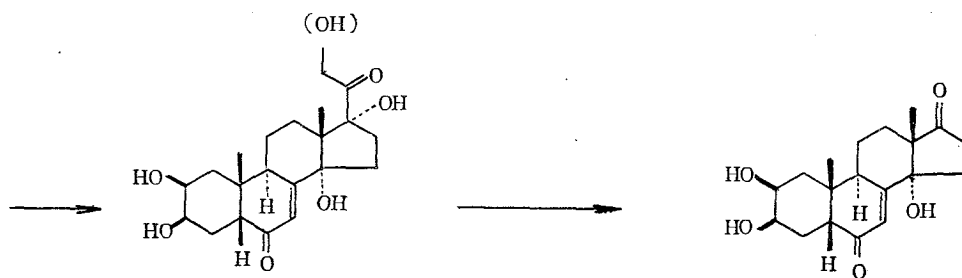


I : R₁ = R₂ = H

IV

II : R₁ = OH, R₂ = H

III : R₁ = H, R₂ = OH



V

VI

Chart

審査結果の要旨

著者はまずカイコのステロール代謝に着目し、高等動物に対して抗コレステロール作用を有する $3\beta-(\beta,\beta\text{-dimethylaminoethoxy})\text{-androst-5-en-17-one}$ およびその関連化合物をカイコに投与した。その結果、対照のカイコでは認められない *desmosterol* の著明な蓄積を認め、カイコはクワ葉に含まれている $\beta\text{-sitosterol}$ を *desmosterol* を經由して *cholesterol* へ変換していることを明らかにした。また、これらの抗コレステロール剤投与によりカイコの上簇、変態が顕著に抑制され、この抑制効果が *ecdysterone* の投与によりある程度弱められることから、この抑制が脱皮ホルモンの生合成阻害に基づくものと推定した。次に、 $^3\text{H}\text{-ecdysterone}$ を合成し、カイコに投与した後、その吸収、分布、代謝および排泄をカイコの各部位および糞から放射性物質を抽出する方法と全身オートラジオグラフィーを併用して詳細に検討した。その結果、5 令幼虫に $^3\text{H}\text{-ecdysterone}$ $0.5\mu\text{g/g}$ を経口投与した場合、その消化管からの吸収はあまりよくないことを明らかにした。一般に、カイコに *ecdysterone* を注射投与した場合、速かに物質 A および B に代謝され、体内に長時間保持されなかつた。さらに、カイコの生長発達段階における *ecdysterone* の代謝活性の変動を検討した結果、蛹 3 日の時期が最も低く、成虫の時期が最も高いという興味ある事実を明らかにした。次に、脱皮ホルモンの中で高い活性を示す *ponasterone A* の ^3H 標識化合物を生合成的に合成し、カイコの 5 令幼虫に注射投与した。その結果、*ponasterone A* はカイコ体内で主に *ecdysterone* に変換され、その主要代謝経路は *ponasterone A* \rightarrow *ecdysterone* \rightarrow 物質 A で、一部は *inokosterone* と *posterone* へ代謝されるという事実を明らかにした。さらに、 $^3\text{H}\text{-ecdysterone}$ をマウスに投与し、その吸収、分布、代謝および排泄を主要臓器および排泄物から放射性物質を抽出する方法とオートラジオグラフィーにより詳細に検討した。その結果、腹腔からの吸収は容易であるのに反し、消化管からの吸収は速かでないことを認めた。この場合、吸収された放射性物質は肝臓、胆のう、消化管および腎臓に多く分布し、その排泄は尿よりも糞を経由することが著しく多いことを明らかにした。

以上の結果は、昆虫脱皮ホルモンの研究に新知見を加えたものであり、学位論文として価値あるものと認める。